

Aus der Hautklinik des Krankenhauses Stuttgart-Bad Cannstatt

Direktor: Professor Dr. med. W. Knoth

Enzymhistochemische Untersuchungen
an Bindegewebszellen der normalen Haut, am Histiocytom,
Dermatofibrom und Dermatofibrosarcoma protuberans

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des
Bereichs Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von
Peter Lammert
aus Bad Ems

Gießen 1972

Aus der Hautklinik des Krankenhauses Stuttgart-Bad Cannstatt

Direktor: Professor Dr. med. W. Knoth

Enzymhistochemische Untersuchungen
an Bindegewebszellen der normalen Haut, am Histiocytom,
Dermatofibrom und Dermatofibrosarcoma protuberans

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des
Bereichs Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von
Peter Lammert
aus Bad Ems

Gießen 1972



Dekan : Prof.Dr.H.J. Staudinger

Referent : Prof.Dr.W. Knoth

1.Berichterstatter : Prof.Dr.L.Illig

2.Berichterstatter : Prof.Dr.H.Ebner

Inhaltsverzeichnis

- I. Einleitung und Fragestellung
- II. Untersuchungsgut und Methoden
 - 1. Das Untersuchungsmaterial und seine Vorbereitung
 - 2. Enzymhistochemische Nachweisverfahren
- III. Untersuchungsergebnisse
 - 1. Normale Haut
 - 2. Histiocytom
 - 3. Dermatofibrom
 - 4. Dermatofibrosarcoma protuberans
- IV. Diskussion
- V. Zusammenfassung
- VI. Literatur

I. Einleitung und Fragestellung

Histochemische Untersuchungen an normaler und pathologisch veränderter Haut werden seit längerer Zeit von pathologisch-anatomischer und dermatologischer Seite durchgeführt. Dabei ergaben zahlreiche Untersuchungen am Epithel und an den Hautanhangsgebilden relativ eindeutige Befunde (Übersicht s. BRAUN-FALCO 1961). Auch bei einer Reihe von pathologischen Bindegewebsprozessen wurden insbesondere histochemische Hydrolasenbefunde erhoben, z.B. durch STEIGLEDER u. LÖFFLER (1956), STEIGLEDER u. SCHULTIS (1957 a,b), KNOTH u.M. (1966). Dabei gelang es jedoch nicht, bestimmte Zellvermehrungen der Cutis histochemisch exakt zu definieren oder gutartige Proliferationen von bösartigen abzugrenzen.

Erfolgreicher konnten histochemische und cytochemische Hydrolasenbefunde bei pathologischen Veränderungen in Lymphknoten (Übersicht s. LENNERT u.M. 1963) sowie in der Leukämiediagnostik (Übersichten s. FISCHER 1968, MERKER 1968) zur Differenzierung der Zellen genutzt werden. Weiterentwickelte Fermentsubstrate und die Einführung von hexazotiertem Para-Rosanilin als Kupplungsfarbstoff (DAVIS u. ORNSTEIN 1959) erbrachten dabei verlässlichere und besser reproduzierbare Befunde. Durch die Anwendung der modifizierten Nachweisverfahren konnte auch die Überschaubarkeit des mikroskopischen Bildes gesteigert werden. Es erschien von Interesse, mit den neuen Methoden entzündliche und geschwulstartige Zellvermehrungen des cutanen Bindegewebes zu untersuchen. Solche Untersuchungsergebnisse liegen für bestimmte Formen cutaner Entzündungen bereits vor (BERGER u.M. 1969, HUNDEIKER 1969, 1970, BRAUN-FALCO u. BURG 1970 a,b).

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit fermenthistochemischen Untersuchungen in normalem und krankhaft verändertem Hautbindegewebe unter bevorzugter Berücksichtigung der Hydrolasen. Im einzelnen sollen die erzielten Befunde am normalen cutanen Bindegewebe, Dermatofibrom, Histiocytom sowie am Dermatofibrosarcoma protuberans einander gegenübergestellt werden.

II. Untersuchungsgut und Methoden

1. Das Untersuchungsmaterial und seine Vorbereitung

Enzymhistochemische Untersuchungen wurden durchgeführt an normalem Hautbindegewebe (3 Excisate), am Histiocytom (3 Excisate), Dermatofibrom (5 Excisate), Dermatofibrosarcoma protuberans (3 Excisate).

Excisionen erfolgten mit dem Skalpell nach Xylocain-Unterspitzung des Gewebes. Für die histologischen Untersuchungen wurden nach Fixierung in 10%igem Formalin und Autotechnicon-Vorbereitung Paraffin-Schnitte angefertigt, für die Lipiddarstellung Gefrier-Schnitte. Histologische Färbungen erfolgten nach den üblichen Standardmethoden (ROMEIS 1968). Für die histochemischen Untersuchungen wurde jeweils ein Teil des unfixierten Excisates mit CO_2 -Schnee auf einen Kryostat aufgefroren und bis zur anschliessenden Bearbeitung bei -20°C aufbewahrt. Die Herstellung 6 μ dicker Gewebsschnitte erfolgte im Kryostaten (Modell Dittes-Duspiva).

2. Enzymhistochemische Nachweisverfahren

a) Peroxydase (nach LEDER 1967). Die Inkubationslösung setzt sich wie folgt zusammen:

200 mg Benzidin, gelöst in
4 ml Aceton und
4 ml Dimethylsulfoxyd, verdünnt mit
32 ml aqua dest., versetzt mit
0,01 ml Perhydrol; filtrieren.

unfixierte Kryostat-Schnitte wurden 10 min inkubiert. Gegengefärbt wurde mit Hämalaun, eingedeckt mit Glycerin-Gelatine.

b) Peroxydase (nach LOELE). Kryostat-Schnitte wurden 10 min in 10%igem Formalin fixiert, 5 min in aqua dest. gewässert. Die Inkubation erfolgte 5 min in folgender Lösung:

500 mg Benzidin, gelöst in
100 ml aqua dest.; filtrieren.
50 ml Filtrat mischen mit
1 ml 1%iger Wasserstoffsuperoxyd-Lösung.

Nach Inkubation Spülen mit dest. Wasser, Kernfärbung mit Hämalaun; Alkoholreihe, Xylol, Einschliessen in Caedax.

- c) Alkalische Phosphatase (nach LEDER 1967). Unfixierte Kryostat-Schnitte wurden 30 min in folgendem Inkubationsgemisch inkubiert:

30 mg α -Naphthylphosphat • Na-Salz
30 mg Echtblausalz BB
30 ml 0,2 M Tris-HCl-Puffer, pH 9,2 - 9,4

Nach Inkubation Abspülen der Präparate mit Leitungswasser, Gegenfärbung mit Hämalaun, Eindecken mit Glycerin-Gelatine.

- d) Saure Phosphatase (nach GOLDBERG u. BARKA 1962). Von jedem Excisat wurden unfixierte Kryostat-Schnitte 15 min, 60 min und 180 min inkubiert. Herstellung der Inkubationslösung:

A: 6 Tropfen 4%ige Pararosanilinlösung in 2 n HCl,
mischen mit
6 Tropfen 4%iger wässriger Natriumnitritlösung,
nach 60 sec verdünnen mit
30 ml 0,1 M Michaelispuffer (pH 7,62). Einstellen
dieser Lösung mit einigen Tropfen 2 n HCl auf pH 5,0

B: 10 mg Naphthol-AS-BI-phosphat, gelöst in
1 ml Dimethylformamid.

Lösung A und B werden zusammengegeben und filtriert.

Nach der Inkubation Abspülen der Präparate unter Leitungswasser, Gegenfärbung mit Hämalaun, Eindecken in Glycerin-Gelatine.

- e) α -Naphthylacetat-Esterase (nach LEDER 1967). Die Reaktion wurde an unfixierten Kryostat-Schnitten durchgeführt, in folgendem Inkubationsgemisch:

A: 4 Tropfen 4%ige Pararosanilinlösung in 2 n HCl,
mischen mit
4 Tropfen 4%iger wässriger Natriumnitritlösung,
nach 60 sec verdünnen mit
40 ml 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,0).

B: 10 mg -Naphthylacetat, gelöst in 1 ml Aceton.

Lösung A und B werden gemischt und filtriert.

Inkubationszeit 10 min und 30 min. Nach der Inkubation kräftiges Abspülen mit Leitungswasser, Gegenfärbung mit Hämalaun, Eindecken in Glycerin-Gelatine.

- f) Naphthol-AS-acetat- und Naphthol-AS-D-acetat-Esterase
(nach LOEFFLER 1961). Unfixierte Kryostat-Schnitte werden in folgender Lösung inkubiert:

10 mg Naphthol-AS-acetat bzw. Naphthol-AS-D-acetat, in
1 ml Aceton gelöst, gemischt mit
40 ml 0,1 M Phosphatpuffer (pH 6,8) und
0,4 ml Propylenglykol; zugegeben werden
80 mg Echtblausalz BB; filtrieren.

Von jedem Untersuchungsfall wurde je 1 Präparat 30 min, 2x30 min (erneuerte Inkubationslösung), 2x60 min (Inkubationslösung erneuern, jeweils doppelte Substratmenge) inkubiert. Abspülen mit Leitungswasser, Gegenfärbung mit Kernechtrot, Eindecken in Glycerin-Gelatine.

- g) Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase (nach LEDER 1967).
Verwandt wurden Paraffin-Schnitte von Formalin-fixiertem Gewebe. Nach Entparaffinieren und dem Einbringen in die absteigende Alkoholreihe Einstellen der Präparate in die folgende Inkubationslösung:

A: 1 Tropfen 4%ige Pararosanilinlösung in 2 n HCl,
mischen mit
1 Tropfen 4%iger wässriger Natriumnitritlösung,
nach 60 sec verdünnen mit
30 ml 0,1 M Michaelispuffer (pH 7,62). Einstellen des pH-Wertes mit 2 n HCl auf 6,3.

B: 10 mg Naphthol-AS-D-chloracetat, gelöst in
1 ml Dimethylformamid.

Lösung A wird zu Lösung B gegeben, die Inkubationslösung wird dann filtriert.

Inkubiert wurde 30 min und 2x30 min (gewechselte Inkubationslösung). Danach Abspülen unter Leitungswasser, Gegenfärbung mit Hämalaun, Eindecken mit Glycerin-Gelatine.

- h) Leucinaminopeptidase (nach KISZELY u. POSALAKY 1964).
Substrat: 25 mg L-Leucyl-4methoxy- β -naphthylamid-HCl
in 6,25 ml aqua dest. lösen. Inkubationslösung:

3 ml der angegebenen Substratlösung,
15 ml 0,1 M Veronalacetat-Puffer (pH 6,5)
10,5 ml 0,85%ige NaCl-Lösung
1,5 ml 2×10^{-2} M Kaliumcyanidlösung
15 mg Echtblausalz B

Unfixierte Kryostat-Schnitte wurden 30 min, 60 min und 120 min inkubiert. Danach wurde 2 min in 0,85%iger NaCl-Lösung gespült. Anschließend Stabilisieren in 0,1 M Kupfersulfat-Lösung für 1 min; Hämalaunfärbung; Eindecken in Glycerin-Gelatine.

- i) Doppelreaktionen (nach LEDER 1967, modifiziert).

- A) Saure Phosphatase, 60 min bzw. 180 min Inkubation (s.o.).
Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase, 5 min, 10 min, 15 min und 30 min Inkubation; Substratmenge erhöht auf 30 mg, Kupplungsfarbstoff Echtblausalz B (30 mg).
- B) α -Naphthylacetat-Esterase, 30 min Inkubation (s. unter Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase (s. unter i,)).
- J) Naphthol-AS- bzw. AS-D-acetat-Esterase 2x30 min, mit gewechseltem Substrat (s. unter f), Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase, Inkubationslösung wie unter g) angegeben. Inkubation 5 min, 10 min, 15 min.

Für die enzymhistochemischen Nachweise werden folgende Abkürzungen verwandt:

POX	Peroxydase
aPh	alkalische Phosphatase
sPh	saure Phosphatase
α -N-E	α -Naphthylacetat-Esterase
NAS-E	Naphthol-AS-acetat-Esterase
NASD-E	Naphthol-AS-D-acetat-Esterase
NASDC-E	Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase
LAP	Leucinaminopeptidase

III. Untersuchungsergebnisse

1. Normale Haut

Untersucht wurde normale Haut in der weiteren Umgebung von Naevuszellnaevi, die am Stamm lokalisiert waren und die keine sonstigen pathologischen Veränderungen aufwiesen.

Fall 1: 60 Jahre, weiblich; JN 1043/70. - Fall 2: 26 Jahre, weiblich; JN 1080/70. - Fall 3: 21 Jahre, männlich; JN 1104/70.

POX: In beiden Modifikationen intravasale Granulocyten deutlich positiv bis stark positiv. Gelegentlich intravasal ein deutlich positiver Monocyt.

aPh: Kapillarendothelien stark positiv. Zellen der bindegewebigen Haarpapille deutlich positiv. Keine sonstigen positiven Reaktionen.

sPh: Nach 15 min Inkubation perivasal im oberen Corium wenige Zellen mit kleinen, chromatindichten annähernd ovalen Kernen, mit einer fraglich positiven Reaktion. - Nach 60 min Inkubation reagieren die genannten perivasalen Zellen schwach bis deutlich positiv; der durch die Reaktion markierte Zelleib ist meist schmal, langgestreckt, zeigt auch kleine Ausläufer. Gleichartige Zellen auch vereinzelt im mittleren und tiefen Corium. Zahlenmässig entsprechen diese Zellen einem normalen Mastzellenbefund. Zusätzlich in einem Fall im oberen Corium einige Melanin enthaltende Zellen mit einer schwach positiven, selten deutlich positiven Reaktion. Fibrocyten negativ, mit Ausnahme schwach positiver Zellen im Bereich des bindegewebigen Haarbalgs. - Nach 180 min Inkubation eine gleichartige schwach bis deutlich positive Reaktion der genannten

perivasalen Zellen (Abb. 1). Melaninhaltige Zellen deutlich positiv. Fibrocyten zu ca. 50 % schwach positiv, sehr selten deutlich positiv; die Positivität setzt sich vom perinucleären Bereich in Faserrichtung fort. Endothelzellen von Kapillaren und kleinen Venen schwach positiv.

Die vorgenommene Doppelreaktion (sPh, NASDC-E) zeigt perivasal 3 Zellarten: 1.) Kleinkernige Histiocyten mit negativer Reaktion, 2.) großkernige Histiocyten mit deutlich positiver sPh-Reaktion, z.T. Melanin enthaltend, 3.) Mastzellen, die regelmässig eine positive NASDC-E-Reaktion und teilweise eine zusätzliche schwach positive sPh-Reaktion aufweisen.

α-N-E: Positiv reagierende Zellen in mässiger Zahl im Stratum papillare, perivasal etwas häufiger. Im Stratum reticulare sind diese Zellen noch weniger zahlreich. Die Zellen weisen kleine bis mittelgrosse, spindelförmige bis ovale Kerne auf. Die positive Reaktion zeigt z.T. unregelmässige Ausläufer, sodaß das Bild dem von Mastzellen entspricht. Reaktion dieser Zellen fraglich bis schwach positiv nach 10 min Inkubation, schwach positiv nach 30 min. Fibrocyten negativ. Fibrocyten im Bereich von Schweißdrüsenendstücken sowie solche im proximalen Drittel der bindegewebigen Haarwurzelscheide nach 10 min Inkubation z.T. schwach positiv, nach 30 min deutlich positiv. Kapillarendothelien negativ.

Die Doppelreaktion an Mastzellen ergibt eine nur fraglich positive α-N-E-Reaktion und eine deutlich positive NASDC-E-Reaktion. Ausser diesen Mastzellen perivasal Zellen mit ovalen bis spindelförmigen, relativ chromatindichten Kernen; das Cytoplasma dieser Zellen bleibt mit beiden Substraten negativ. Ganz selten eine morphologisch ähnliche Zelle mit isoliert schwach bis deutlich positiver α-N-E-Reaktion nachweisbar (Abb. 2).

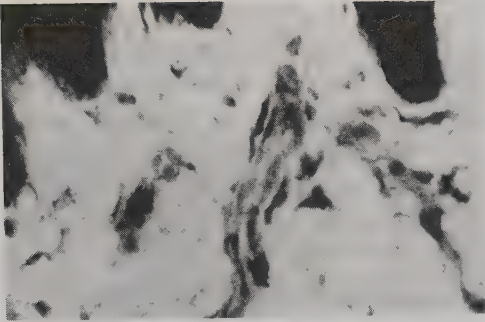


Abb.1: Normalgewebe
Saure Phosphatase 180 min
Vergr. ca. 500 x

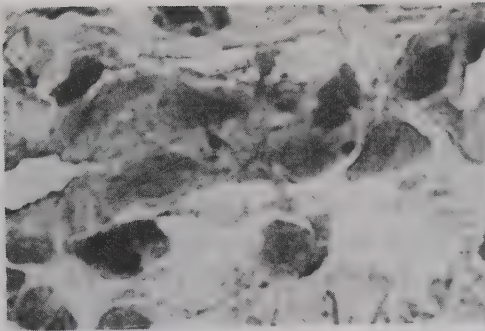


Abb.2: Normalgewebe
Doppelreaktion:
✓-Naphthylacetat-E. 30 min (pos.)
Naphthol-AS-D-chl.-E. 30 min (neg.)
Vergr. ca.1250 x

NAS-E und NASD-E: Positiv reagieren ausschliesslich einige wenige Zellen, die im Stratum papillare bevorzugt perivascular, allerdings in etwas weiterer Umgebung der Kapillaren und Venolen lokalisiert sind. Im Stratum reticulare ganz vereinzelt eine solche Zelle ohne erkennbaren Gefäßbezug. Die Zellen entsprechen in Kernform und in dem durch die Positivität markierten Cytoplasma oft Mastzellen. Zahlenmässig bleibt der normale Mastzellenbefund gewahrt. Reaktion dieser Zellen nach 30 min Inkubation fraglich positiv, nach 2x30 min schwach positiv, nach 2x60 min schwach bis deutlich positiv. Die Doppelinkubation (NAS-E und NASDGE) beweist, daß es sich bei diesen Zellen um Mastzellen handelt (Abb. 3). Auch der Reaktionsausfall in den Mastzellen der Urticaria pigmentosa belegt die positive Esterasen-Reaktion (Abb. 4). Die Doppelreaktion läßt ausser den Mastzellen keine enzym-positiven perivascularen Zellen erkennen. - Fibrocyten und Gefäßendothelien bei allen Inkubationszeiten negativ.

NASDC-E: Positiv intravasale neutrophile Granulocyten sowie Mastzellen; nach 30 min Inkubation deutlich positiv (Abb. 5), nach 2x30 min stark positiv. Das durch die Reaktion markierte Cytoplasma der Mastzellen oft schmal, langgestreckt, auch gering verzweigt; seltener kleinflächig oval; sehr selten großflächig, mit zipfeligen Ausläufern. Zahl und Lage dieser Zellen entsprechen dem mit Naphthol-AS-acetat bzw. Naphthol-AS-D-acetat erhobenen Esterasenbefund. - Mastzellen können mit spindelförmigen Kernen und schmalem zipfelig ausgezogenem Cytoplasma Fibrocyten ähneln (Abb. 5). Morphologisch gleichartige Zellen reagieren auch positiv mit Naphthol-AS-acetat (Abb. 6).

LAP: Kapillarendothelien nach 30 min Inkubation schwach bis deutlich positiv. Im Stratum papillare zusätzlich einige nicht klassifizierbare schwach positiv reagierende

a

b

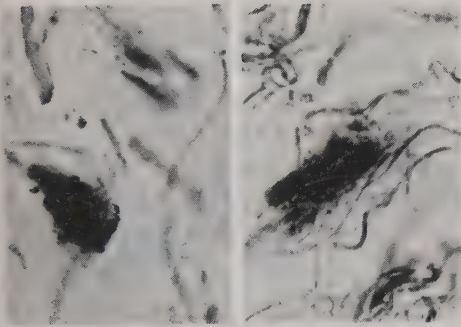


Abb.3: Normalgewebe, Mastzellen
Doppelreaktion:
Naphthol-AS-D-E. 60 min
Naphthol-AS-D-chl.-E. 10 min (a)
15 min (b)
Vergr. ca. 1250 x

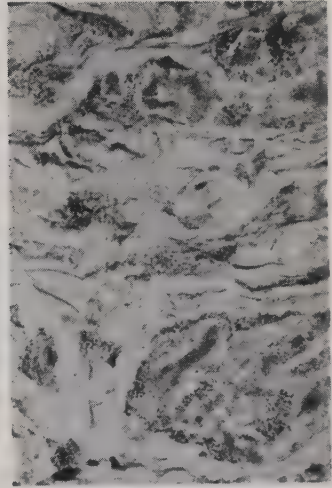


Abb.4: Urticaria pigmentosa
Naphthol-AS-E. 2x60 min
Vergr. ca. 500 x

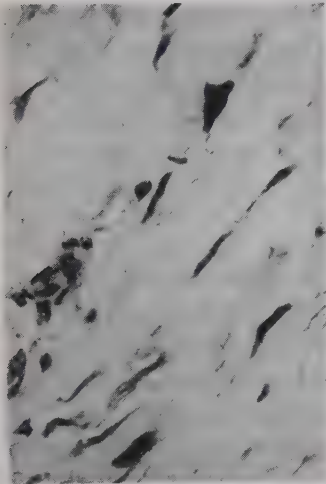


Abb.5: Normalgewebe, Mastzellen
Naphthol-AS-D-chl.-E. 30 min
Vergr. ca. 500 x

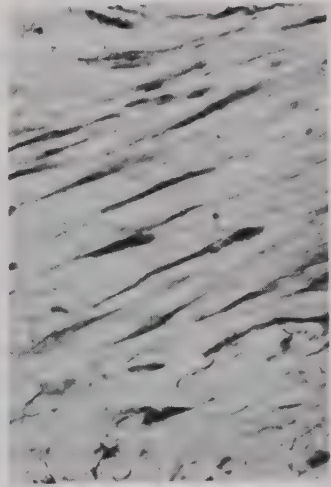


Abb.6: Keloid, Mastzellen
Naphthol-AS-E. 2x30 min
Vergr. ca. 500 x

Zellen. Die Zellen der bindegewebigen Haarpapille deutlich positiv. - Kapillarendothelien nach 60 min Inkubation deutlich bis stark positiv. Alle anderen Zellen des Stratum papillare schwach bis deutlich positiv, im Stratum reticulare ganz vereinzelt eine schwach positive Zelle, bei der es sich um eine Mastzelle handeln kann. Fibrocyten des Stratum reticulare negativ. Die erwähnten perifollikulären Fibrocyten deutlich positiv, die der bindegewebigen Haarpapille stark positiv. - Nach 120 min Inkubation stark positive Kapillarendothelien. Alle anderen Zellen im Stratum papillare deutlich positiv, eine Zelldifferenzierung erscheint nicht möglich. Fibrocyten des Stratum reticulare überwiegend schwach positiv.

2. Histiocytom

Fall 1: 43 Jahre, weiblich; JN 805/71. Klinisch typisches Histiocytom am linken Oberarm. Histologisch: Histiocytom, zellreich; Zellkerne mittelgroß, oval, relativ chromatin-dicht; im epidermisnahen Anteil zahlreiche Zellen mit Hämosiderinspeicherung, im tieferen Anteil zusätzlich Fettspeicherung, z.T. in grossen mehrkernigen Zellen, die teilweise dann auch Hämosiderin enthalten. An der Basis Übergang in fibrocytäre Partien mit Bildung schmaler kollagener Fasern.

Fall 2: 33 Jahre, männlich; JN 782/71. Histiocytom am Rücken. Histologisch: Histiocytom mit großkernigen Histiocyten, die im epidermisnahen Anteil selten feintropfig Lipide speichern. Im Zentrum und in den tieferen Anteilen eine erhebliche Fettspeicherung. Ganz vereinzelt eine kleine Zellgruppe mit Hämosiderinspeicherung.

Fall 3: 46 Jahre, weiblich; JN 1561/70. Histiocytom an der rechten Schulter. Histologisch: Epidermisnahe Hälfte des Tumorgewebes dichtzellig, mit zahlreichen hämosiderinspeichernden Zellen, selten einer Fettspeicherung. Der tiefere Anteil zeigt zunehmend eine Faserbildung und bleibt, mit Ausnahme einer fettgewebnsnahen Partie, ohne Hämosiderinspeicherung.

POX: Alle Zellen des Histiocytoms negativ. Einmal ein deutlich positiver Monocyt extravasal.

aPh: Histiocytome eindeutig vermehrt kapillarisiert, Kapillarendothelien stark positiv. Keine sonstigen positiven Zellen.

sPh: Nach 15 min Inkubation wenige Histiocyten ohne erkennbare Speicherung schwach positiv, hämosiderinspeichernde Zellen negativ oder schwach positiv, fettspeichernde Zellen schwach bis deutlich positiv. - Nach 60 min Inkubation Histiocyten deutlich positiv, hämosiderinspeichernde Histiocyten schwach bis deutlich positiv, fettspeichernde Histiocyten deutlich bis stark positiv (Abb. 7), Fibrocyten in den faserbildenden Anteilen schwach bis deutlich positiv. - Nach 180 min Inkubation kein wesentlich stärkerer Reaktionsausfall.

α-N-E: Histiocyten in lichtoptisch nicht speichernden Partien nach 10 min Inkubation selten schwach positiv, nach 30 min weit überwiegend deutlich positiv (Abb. 8). Hämosiderinspeichernde Histiocyten nach 10 min schwach positiv, nach 30 min deutlich, z.T. stark positiv. Fettspeichernde Zellen nach 10 min deutlich positiv (Abb. 9), nach 30 min deutlich oder stark positiv. Fibrocyten der fibrocytären Anteile nach 30 min z.T. schwach bis deutlich positiv.

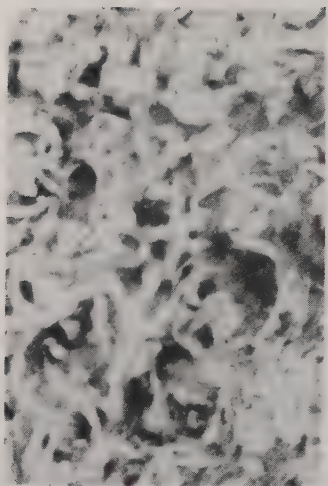


Abb.7: Histiocytom, Fall 2
Saure Phosphatase 60 min
Vergr. ca. 500 x



Abb.8: Histiocytom, Fall 2,
 α -Naphthylacetat-E. 30 min
Vergr. ca. 320 x

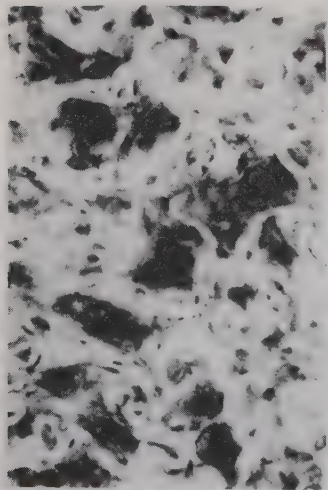


Abb.9: Histiocytom, Fall 2
 α -Naphthylacetat-E. 10 min
Vergr. ca. 320 x

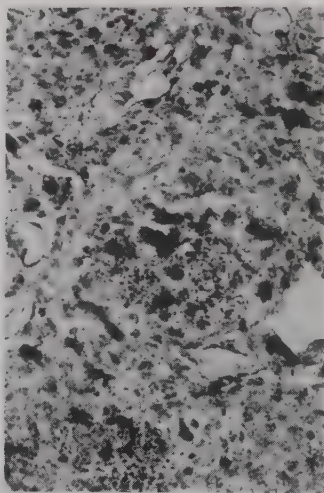


Abb.10: Histiocytom, Fall 2,
Naphthol-AS-D-E. 2x30 min
Vergr. ca. 320 x

NAS-E: Nichtspeichernde Histiocyten und rein hämosiderinspeichernde Zellen negativ. Positiv ausschliesslich fettspeichernde Zellen: Nach 30 min Inkubation deutlich positiv oder stark positiv, nach 2x30 min stark positiv.

NASD-E: Reaktionsausfall entsprechend der NAS-E (Abb. 10).

NASDC-E: Mastzellen vermehrt nachweisbar, deutlich bis stark positiv.

LAP: Histiocyten und fettspeichernde Histiocyten nach 30 min Inkubation schwach bis deutlich positiv, nach 60 min deutlich bis stark positiv, nach 120 min stark positiv. Hämosiderinspeichernde Zellen negativ. Fibrocyten stark positiv.

Die an hämosiderinspeichernden und lipidspeichernden Zellen erhobenen Hydrolasenbefunde bestätigen sich bei der vergleichenden Untersuchung eines angiomatös-fibroblastischen Herdes eines Sarcoma idiopathicum multiplex haemorrhagicum Kaposi bzw. an den speichernden Zellen eines Hautknotens bei hyperlipidämischer Xanthomatose.

3. Dermatofibrom

Fall 1: Klinisch typisches Dermatofibrom an der linken Hüfte; 29 Jahre, männlich; JN 1110/70.I.

Fall 2: Gleichartiger kleiner Tumor an der linken Schulter; 29 Jahren, männlich; JN 1110/70 II.

Fall 3: Dermatofibrom am rechten Oberarm; 26 Jahre, weiblich; JN 389/71.

Fall 4: Dermatofibrom im Kniebereich links; 21 Jahre, weiblich; JN 616/70 I.

Fall 5: Dermatofibrom am rechten Unterschenkel; 21 Jahre, weiblich; JN 616/70 II.

Histologisch: Unterschiedlich zellreiche Dermatofibrome, die neben rein fibrocytären Partien mit Ausbildung schmaler kollagener Fasern auch kleinere dichtzelligere Bereiche aufweisen, in denen die mittelgrossen, relativ chromatinindichten ovalen Kerne nicht immer kollagenen Fasern zugeordnet werden können. Diese Zellen werden als Histiocyten bezeichnet. - In allen 5 Fällen mikroskopisch keine Lipid- oder Hämosiderinspeicherung faßbar. Das mikroskopische Bild geht aus den Abbildungen der histochemischen Befunde hervor, sodaß auf eine gesonderte Darstellung verzichtet wird.

POX: Vereinzelt intravasal ein stark positiver Granulocyt. Dermatofibromzellen negativ. In den gelegentlich nachweisbaren perivasalen Rundzellinfiltraten keine positiven Zellen.

aPh: In den Randpartien der Dermatofibrome vermehrt Kapillaren, Endothelien stark positiv. Fibrocyten und Histiocyten negativ.

sPh: Nach 15 min Inkubation Fibrocyten negativ, wenige Histiocyten schwach positiv. - Nach 60 min Fibrocyten schwach positiv bis deutlich positiv. Histiocyten deutlich positiv. - Nach 180 min Fibrocyten etwa zur Hälfte schwach positiv, zur Hälfte deutlich positiv (Abb. 11). Auch Fibrocyten im Bereich des tiefen Coriums, ausserhalb des Dermatofibroms, zu etwa 50 % schwach bis deutlich positiv. Histiocyten deutlich positiv. Kapillarendothelien schwach positiv.

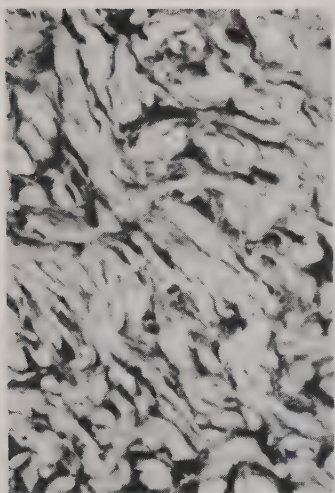


Abb.11: Dermatofibrom, Fall 3,
Saure Phosphatase 180 min
Vergr. ca. 500 x

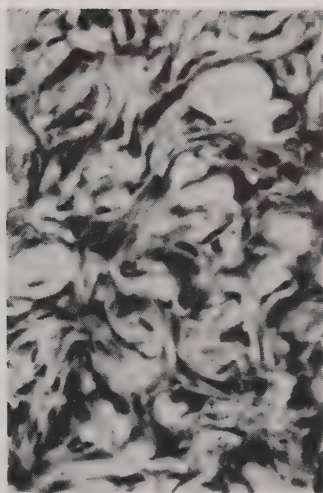


Abb.12: Dermatofibrom, Fall 4,
 α -Naphthylacetat-E. 30 min
Vergr. ca. 500 x

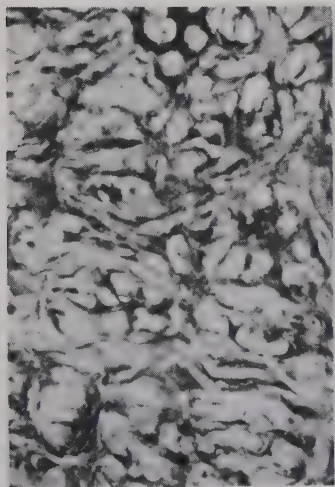


Abb.13: Dermatofibrom, Fall 3,
Naphthol-AS-D-E. 2x60 min
Vergr. ca. 500 x

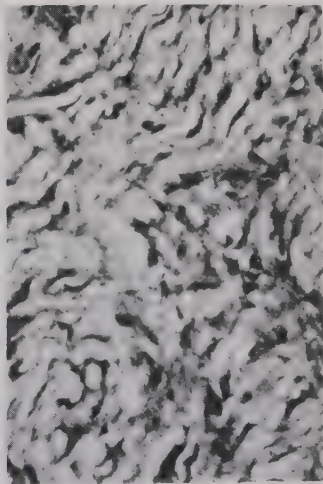


Abb.14: Dermatofibrom, Fall 3,
Leucinaminopeptidase 30 min
Vergr. ca. 500 x

α-N-E: Nach 10 min Inkubation Fibrocyten grundsätzlich negativ, nach 30 min im Fall 1 und 2 schwach positiv, selten gering stärker reagierend. In den übrigen 3 Fällen Fibrocyten auch nach 30 min Inkubation negativ. In allen Fällen morphologisch histiocytäre Partien nachweisbar, diese Zellen nach 10 min Inkubation schwach positiv, nach 30 min deutlich positiv (Abb. 12). Diese positiven Histiocyten machen in Fall 1 und 2 einen grösseren Anteil der Dermatofibromzellen aus, in den übrigen 3 Fällen einen sehr geringen Anteil. - Kapillarendothelien nach 30 min Inkubation überwiegend schwach positiv.

NAS-E: Fibrocyten und Histiocyten bei allen Inkubationszeiten negativ. Mastzellen nach 2x30 min schwach positiv, nach 2x60 min schwach bis deutlich positiv.

NASD-E: Befund entsprechend der NAS-E-Reaktion (Abb. 13).

NASDC-E: Mastzellen im Bereich des Dermatofibroms deutlich vermehrt nachweisbar, noch stärker vermehrt im angrenzenden Corium; nach 30 min Inkubation deutlich positiv, nach 2x30 min stark positiv. Die Zahl dieser Zellen geht über die mit Naphthol-AS-acetat und Naphthol-AS-D-acetat reagierenden Zellen hinaus.

LAP: Fibrocyten nach 30 min Inkubation schwach bis deutlich positiv (Abb. 14), nach 60 min deutlich positiv, nach 120 min stark positiv. Histiocyten nach 30 min Inkubation deutlich positiv, nach 60 min stark positiv.

4. Dermatofibrosarcoma protuberans

Fall 1: Klinisch typisches Dermatofibrosarcoma protuberans im Lendenbereich rechts; 41 Jahre, weiblich; JN 1399/70.

Histologisch: Fibroblastenreiches, mitotisch aktives Tumorgewebe, das das Corium und einen Teil des Fettgewebes ersetzt, infiltrierend in das Fettgewebe und das seitliche ortsständige kollagene Fasergewebe vordringt; die für diesen Tumor oft kennzeichnenden radiären Faserstrukturen werden deutlich.

Fall 2: Tumor im Schulterbereich; 45 Jahre, männlich; JN 1377/69. Histologisch: Corium durch ein relativ uniformes Tumorgewebe ersetzt, das flächenhaft oder in Bündeln proliferierende kollagene Fasern ausbildet; radiäre neurogenoide Strukturen seltener.

Fall 3: Tumor im Clavicularbereich rechts; 43 Jahre, weiblich; JN 682/71. Histologisch: Typische Strukturen des Dermatofibrosarcoma protuberans (Abb. 15).

POX: Lediglich einzelne intravasale Granulocyten stark positiv.

aPh: Keine Positivität der Fibroblasten oder der Fasern des Tumorgewebes nachweisbar. Tumorgewebe reichlich kapillarisiert, Kapillarendothelien deutlich bis stark positiv (Abb. 16).

sPh: Untersuchungsbefund im Fall 1 und 3 identisch: Fibroblasten nach 15 min Inkubation negativ, nach 60 min Inkubation teilweise schwach positiv, nach 180 min überwiegend schwach positiv, teilweise deutlich positiv (Abb. 17). Im Fall 2 fällt die Reaktion etwas schwächer aus; Fibroblasten erst nach 180 min Inkubation zu 60 - 70 % schwach positiv, übrige Fibroblasten fraglich positiv. Im Bereich von Rundzellinfiltraten einige unterschiedlich grosse Histocyten, nach 60 min Inkubation deutlich positiv, nach 180 min deutlich bis stark positiv.

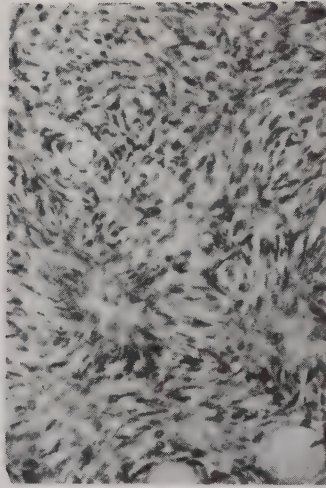


Abb.15: Dermatofibrosarcoma protub., Fall 3
Hämat.-Eos. - Vergr.ca. 320 x

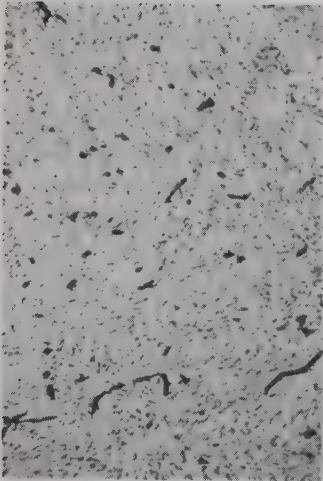


Abb.16: Dermatofibros.prot., Fall 1
Alkal.Phosphatase 30 min
Vergr. ca. 120 x



Abb.17: Dermatofibros.prot., Fall 1
Saure.Phosphatase 180 min
Vergr. ca. 320 x

α-N-E: In allen Untersuchungsfällen Fibroblasten nach 10 min Inkubation, nach 30 min (Abb. 18) sowie nach der hier ausnahmsweise vorgenommenen 60 min langen Inkubation negativ. In Rundzellinfiltraten einige deutlich positive Histiocyten, auch gelegentlich isoliert im Tumorgewebe.

NAS-E: Fibroblasten in allen Fällen und bei allen angegebenen Inkubationszeiten negativ. Einige Mastzellen schwach positiv.

NASD-E: Befunde entsprechen der NAS-E.

NASDC-E: Mastzellen positiv bis stark positiv, nicht vermehrt nachweisbar.

LAP: Tumorzellen nach 30 min Inkubation schwach positiv bis selten deutlich positiv; nach 60 min deutlich bis stark positiv (Abb. 19). Die Positivität erfaßt nahezu den gesamten Faserverlauf, ist perinucleär verdichtet. Nach 120 min Inkubation stark positive Reaktion, abschnittsweise auch positive Reaktion im Zwischengewebe (Diffusion? Aktivität in der Grundsubstanz?).

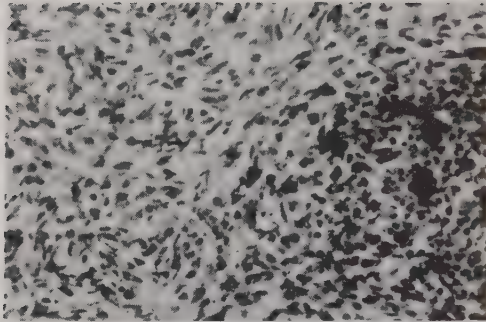


Abb.18: Dermatofibros.prot., Fall 3
 α -Naphthylacetat-E. 30 min
Vergr. ca. 320 x

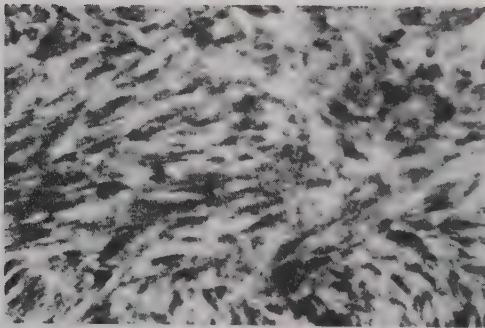


Abb.19: Dermatofibros.prot., Fall 1
Leucinaminopeptidase 60 min
Vergr. ca. 500 x

IV. Diskussion

1. Normale Haut

In der normalen Haut ist der Fibroblast neben den Blutgefäßzellen die häufigste Zelle. Daneben finden sich zahlreiche Mastzellen. Histiocyten lassen sich lichtmikroskopisch nur nach Phagocytose sicher erkennen (MONTAGNA 1962). Man unterscheidet zwischen Fibrocyten und Fibroblasten. Während Fibrocyten vorzugsweise im inaktiven Bindegewebe anzutreffen sind, sieht man Fibroblasten vor allem im regenerierenden Bindegewebe. Auch morphologisch lassen sich die genannten Zelltypen voneinander abgrenzen. Fibrocyten besitzen einen schmalen, spindelförmigen, chromatindichten Kern, Fibroblasten einen grösseren, ovalen, helleren Kern.

Die Fibrocyten des normalen cutanen Bindegewebes zeigen histochemisch nur geringe Hydrolasenaktivitäten (s.Tab. 1). Bei den eigenen Untersuchungen fällt der Nachweis der sauren Phosphatase etwa bei der Hälfte der Fibrocyten schwach positiv aus. Diese schwache Aktivität ist im Stratum papillare und Stratum reticulare gleich, nur die Fibrocyten des bindegewebigen Haarbalgs reagieren regelmässig deutlicher positiv. Das Schrifttum bietet relativ wenig Befunde zur sauren Phosphatase-Reaktion normaler Bindegewebszellen. Meist werden Befunde an der Epidermis und an den Hautanhangsgebilden (SPIER u. MARTIN 1956, WOHLRAB 1963) mitgeteilt.

In einer Übersicht, die Befunde der Metallsalz- und der Azofarbstoffmethode berücksichtigt, wird das normale Hautbindegewebe histochemisch als saure Phosphatase-negativ bezeichnet. (BRAUN-FALCO 1961). Dagegen zeigten Fibroblasten

Tab. 1: Enzymhistochemische Befunde an normaler Haut

	POX	aPh	sPh	L-N-E	NAS- NASD-E	NASDC-E	LAP
Fibrocyten	o	o	z.T.+	o	o	o	+
Mastzellen	o	o	+	+	+ / ++	+++	++
Kap.endoth.	o	+++	+	o	o	o	+++
Histiocyten	o	o	selten +	selten +	o	o	-

Zeichenerklärung: + = schwach positiv
 ++ = deutlich positiv
 +++ = stark positiv

eine positive feingranuläre Reaktion mit der auch in den eigenen Untersuchungen verwandten Azofarbstoff-Methode (BRAUN-FALCO u. BURG 1970 a). In den eigenen Untersuchungen liessen sich erst nach 3-stündiger Inkubation ein schwach positiver Befund an einem Teil der Fibrocyten feststellen. Im Gegensatz dazu erzielt man bei phagocytierenden Zellen schon nach kürzerer Inkubationszeit eine lysosomale, stark positive Reaktion auf saure Phosphatase. Die histochemisch nachweisbare schwache saure Phosphatase-Aktivität in Fibrocyten des normalen Hautbindegewebes ist möglicherweise nicht lysosomal.

Weiterhin ließ sich in den Fibrocyten, ebenfalls nach längerer Inkubationszeit, histochemisch eine geringgradige Amino-peptidase-Aktivität nachweisen. Diesen Befund teilen auch frühere Untersucher mit (BRAUN-FALCO 1956, ISHIKAWA u. KLINGMÜLLER 1963). Die Fibrocyten des Stra-

tum reticulare werden auch als Aminopeptidase-negativ beschrieben (ARDACHIS u. MONTAGNA 1961). Dagegen wird eine Aminopeptidase-Aktivität in allen Fibroblasten des embryonalen Bindegewebes und auch des Bindegewebes im Kindesalter gefunden (MONTAGNA 1962). Die eigenen Befunde können im Hinblick auf das verwandte Substrat, das eine 2-stündige Inkubation ohne wesentliche Diffusionseffekte zuläßt, als verlässlich gelten. Danach dürften sich wahrscheinlich alle Fibrocyten des Stratum reticulare durch eine schwache Aminopeptidase-Aktivität auszeichnen. Im Stratum papillare und im Bereich der Hautanhangsgebilde lassen die Fibrocyten eine stärker positive Reaktion erkennen. Im Hinblick darauf, daß es sich hier um Coriumanteile handelt, die histochemisch eine verstärkte Anfärbbarkeit saurer Mucopolysaccharide aufweisen, hat man eine Beziehung zum Mucopolysaccharidstoffwechsel vermutet (BRAUN-FALCO 1961). Andererseits spalten die mit den verwandten Substraten nachweisbaren Aminopeptidasen hauptsächlich Oligo- und Polypeptide, so daß auch Beziehungen zum Proteinstoffwechsel denkbar sind.

Unspezifische Esterasen liessen sich in Fibrocyten des Stratum papillare und reticulare nicht nachweisen. Die Versuche wurden mit α -Naphthylacetat und Naphthol-AS- bzw. -Naphthol-AS-D-acetat als Substrat durchgeführt. Eine deutliche positive Reaktion zeigten lediglich die Fibrocyten im proximalen Drittel der bindegewebigen Haarwurzelscheide sowie solche im Bereich von Schweißdrüsendstücken. Neuere Untersuchungen, die mit der gleichen Methode durchgeführt wurden, erbrachten ebenfalls negative Befunde an Fibrocyten (LEDER 1967, HUNDEIKER 1969). Im Gegensatz dazu fand sich in umfangreichen früheren histochemischen Untersuchungen grundsätzlich eine Esterase-Aktivität in Fibroblasten, mit stärkerer Reaktion in den Fibroblasten des Papillarkörpers, der Bindegewebsscheide

der Haarfollikel sowie der um Schweißdrüsen gelegenen Zellen (MONTAGNA 1962). Die eigenen Untersuchungen bestätigen eine deutliche periadnexielle Reaktion. Sie beruht u.E. auf einem gesteigerten Stoffwechselumsatz der hier gelegenen Fibrocyten, analog zum Befund der Aminopeptidase-Reaktion. Die periadnexiell gelegenen Zellen sind aufgrund ihrer Zahl und Kernform klar als Fibrocyten zu differenzieren. Man kann schliessen, daß Fibrocyten unter bestimmten Stoffwechselbedingungen eine positive unspezifische Esterase-Reaktion, und zwar ausschliesslich mit dem Substrat α -Naphthylacetat zeigen.

Mastzellen trifft man in der gesamten Dermis sowie im Fettgewebe an. Sie sind überwiegend perivasal gelagert. Der Nachweis intracellulärer metachromatischer Granula ist entscheidend für die Abgrenzung von den übrigen Bindegewebszellen. Kern- und Plasmaformen sind variabel, z.T. hat die Mastzelle Ähnlichkeit mit dem Fibroblasten (MONTAGNA 1962). Histochemische Befunde an Mastzellen wurden mehrfach mitgeteilt (Übersicht s. SCHMIDT 1968). Hervorgehoben werden muß die stark positive Esterasen-Reaktion mit Naphthol-AS-D-chloracetat als Substrat (s. LEDER 1967). Diese Reaktion ist für die Mastzelle charakteristisch. Die eigenen Befunde zeigen weiter eine schwach positive Reaktion auf saure Phosphatase sowie eine schwach positive Esterasen-Reaktion mit α -Naphthylacetat als Substrat.

Mit Naphthol-AS- bzw. Naphthol-AS-D-acetat als Substrat ließ sich nach längerer Inkubation eine schwach bis deutlich positive Esterase-Reaktion erzielen. Diese Befunde werden auch von anderen Autoren mit-geteilt (LENNERT 1961 b, SCHAUER 1964, HUNDEIKER 1969). Die Esterase-Reaktion fällt mit dem Substrat Naphthol-AS-acetat etwas stärker positiv aus (LENNERT 1961 b). Der deutlich positive Nachweis der Leucinaminopeptidase stimmt mit einer früheren

Mitteilung überein (BRAUN-FALCO u. SALFELD 1959). Der Versuch, bei der vorgenommenen Doppelreaktion neben der charakteristischen Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase zusätzlich saure Phosphatase oder α -Naphthylacetat- bzw. Naphthol-AS-acetat-Esterase nachzuweisen, ergab lediglich für das letztgenannte Substrat einen befriedigenden Befund (vergl. Abb. 2). Gelegentlich reagieren auch fibrocytenartig imponierende oder aufgrund ihrer Zellkerne den Histiocyten gleichende Zellen im Bindegewebe mit Naphthol-AS-acetat. Morphologisch identische Zellen zeigen schon nach kurzer Inkubationszeit eine deutlich positive Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase-Reaktion und sind somit als Mastzellen zu identifizieren (vergl. Abb. 3). Diese Befunde sowie der obengenannten Doppelreaktion lassen darauf schliessen, daß ein Teil fibrocytenähnlicher Zellen mit schwacher bis deutlich positiver Naphthol-AS-acetat-Esterase-Reaktion Mastzellen darstellt. Es handelt sich bei derartigen Esterase-positiven Zellen also nicht immer um Monocyten, obwohl diese, wie besonders LEDER (1967) betont, im Gewebe sehr variable Formen annehmen können. In früheren Mitteilungen wird beim Vorhandensein Esterase-positiver, perivasaler Zellen die notwendige Abgrenzung zu Mastzellen nicht immer vorgenommen (s. z.B. STEIGLEDER u. LÖFFLER 1956; STEIGLEDER u. SCHULTIS 1957 a).

Nach den eigenen Untersuchungen reagieren Mastzellen mit den Substraten Naphthol-AS- bzw. Naphthol-AS-D-acetat nach 30 min im Gegensatz zu Monocyten nur fraglich positiv, nach 2x30 min schwach positiv, selten deutlich positiv. Auch durch Verlängerung der Inkubationsdauer und Verdoppelung der Substratmenge ist kein stärkerer Reaktionsausfall zu erreichen. Die Granula des Reaktionsproduktes sind nur schütter im Cytoplasma gelagert, weniger dicht als bei Monocyten.

Zwischen Perivasalzellen und Histiocyten bestehen enge Beziehungen, sodaß die Befunde im folgenden gemeinsam besprochen werden sollen. Der Histiocyt zählt zum reticuloendothelialen System (ASCHOFF 1924). Wesentliche Leistungen dieser Zelle sind Phagocytose und Speicherung. Die mesenchymalen Zellen der perivasalen Indifferenzzone gelten als Ursprungszellen (MARCHAND 1924, HERZOG 1923, FRESEN 1957). Lichtmikroskopisch zeigt die Perivasalzone ein im Vergleich zum übrigen Corium zartes und stärker verzweigtes Fasergerüst; die Fasern sind argyrophil. Der lichtmikroskopische Aspekt und die Argyrophilie entsprechen embryonalem Bindegewebe. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der argyrophilen Fasern führten zu neuen Aspekten: Die Fasern lassen unverzweigte Elementarfibrillen mit einer periodischen Querstreifung von 640 Å erkennen und weisen damit die Feinstruktur kollagener Fasern auf (Literatur s. GIESEKING 1966). Demnach könnte es sich bei den perivasalen, argyrophilen Fasern bildenden Zellen um Fibrocyten handeln, deren Faserprodukt aus bestimmten Gründen nicht weiter polymerisiert. Dies könnte einmal durch eine Besonderheit der Molekularstruktur des Fasermoleküls, zum anderen durch solche der Matrix bedingt sein.

Der Histiocyt ist nach MONTAGNA (1962) nur nach Phagocytose zu differenzieren. Auf der anderen Seite wird seine Existenz überhaupt bestritten (s. LEDER 1967). Die Beschreibung des Histiocyten geht auf KIYONO zurück (s. MACHER 1964). Nach diesem Untersucher sollen Histiocyten zahlreich in der Adventitia von Blutgefäßen, vereinzelt auch zwischen den kollagenen Fasern vorkommen. Die Kerne dieser Zellen erscheinen rund bis oval oder nierenförmig und sind kleiner und chromatindichter als die von Fibroblasten. - Elektronenoptisch finden sich im

Corium ausser den reifen Histiocyten (Makrophagen) noch Zellen, die nicht die charakteristischen Merkmale anderer, definierter Zellen tragen (BREATHNACH 1971). Ihr Kern ist eingekerbt, im Cytoplasma sieht man zahlreiche kleine Vakuolen und einige Lysosomen; ein endoplasmatisches Reticulum ist spärlich ausgebildet. Diese Zellen sind möglicherweise inaktive "Histiocyten", korrekter wären sie als "relativ undifferenzierte dermale Zellen zweifelhafter Herkunft und Funktion" zu bezeichnen (BREATHNACH 1971). Derartige Zellen stellen einen "signifikanten Anteil" der freien dermalen Zellen dar. Es wird auch für möglich gehalten, daß es sich um undifferenzierte Langerhand-Zellen handelt (BREATHNACH 1971).

Histochemische Untersuchungen an perivasalen Zellen sind dadurch erschwert, daß Zellen mit Bildung kollagener Fasern von solchen mit argyrophiler Faserbildung morphologisch nicht unterschieden werden können. Zusätzliche Schwierigkeiten bereitet das variable Zellbild der Mastzellen. Bei den eigenen Untersuchungen weisen regelmässig mehrere perivasale Zellen eine histochemisch faßbare schwache saure Phosphatase-Aktivität und eine schwach positive Reaktion auf unspezifische Esterasen mit *L*-Naphthylacetat auf.

Eine morphologische Abgrenzung der Mastzellen läßt sich innerhalb dieser Zellen nicht mit Sicherheit durchführen. Eine Abgrenzung ist aber notwendig, wenn positive Esterasenbefunde an Perivasalzellen mitgeteilt werden. Bei der vorgenommenen Doppelreaktion (sPh/NASDC-E) stellt sich heraus, daß es sich bei den meisten saure Phosphatase-positiven Zellen um Mastzellen handelt. Eine isoliert saure Phosphatase-positive Zelle, die dann gelegentlich Melanin-granula aufweist, findet sich nur vereinzelt. Ausserdem sind Phosphatase-negative Zellen vorhanden.

Bei der Reaktion auf unspezifische Esterasen (Substrat α -Naphthylacetat) verhält sich der größte Teil der Perivasalzellen ebenfalls negativ. Ganz vereinzelt ließ sich eine schwach bis deutlich positive Zelle, bei der es sich nach den Befunden der Doppelreaktion nicht um eine Mastzelle handelt, neben den negativen Zellen nachweisen. Hervorgehoben sei, daß bei der Doppelreaktion isoliert Naphthol-AS-acetat-positive Zellen nicht festgestellt werden konnten. Diese so befundeten perivasal gelegenen Zellen besitzen mittelgrosse, ovale bis annähernd runde, relativ chromatindichte Kerne, die sich von denen der Endothelien und der Fibrocyten morphologisch unterscheiden. Das cutane Bindegewebe weist nach den eigenen Untersuchungen also Perivasalzellen auf, die bei insgesamt nur geringer Anzahl negative Hydrolasenbefunde zeigen. Es handelt sich wahrscheinlich um reife Histiocyten. Von den Mastzellen sind wenige saure Phosphatase- und α -Naphthylacetat-Esterase-positive Zellen abzugrenzen, z.T. mit Melaninspeicherung. Diese Zellen können u.E. als reife Histiocyten bezeichnet werden. Die Genese dieser Perivasalzellen kann durch die vorgelegten Befunde nicht geklärt werden.

Schliesslich soll noch auf die an Blutgefäßendothelien darstellbaren Reaktionen kurz eingegangen werden. Kapillarendothelien zeigen eine stark positive Reaktion auf alkalische Phosphatase und Leucinaminopeptidase, entsprechend früher erhobenen Befunden (Literatur s. BRAUN-FALCO 1961). Saure Phosphatase ist in Endothelien von Kapillaren und Venolen meist schwach positiv nachweisbar (vergl. BRAUN-FALCO u. BURG 1970 a). In jüngeren Mitteilungen wird ein negativer Reaktionsausfall für unspezifische Esterasen angegeben (HUNDEIKER 1969, BRAUN-FALCO u. BURG 1970 a).

Die eigenen mit den gleichen Substraten durchgeführten Untersuchungen erbrachten gleichartige Befunde. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß die negative Esterasen-Reaktion der Endothelzelle kein konstantes Merkmal ist, das sie unter allen Umständen beibehält.

2. Histiocytom

WORINGER (1931) sowie WORINGER u. KVIATKOWSKY (1932) unterschieden erstmals zwischen Histiocytom und Dermato-fibrom. Die Pathogenese des Histiocytoms ist problematisch. WORINGER u. KVIATKOWSKY (1932) hielten das Histiocytom für einen gutartigen Tumor, den sie aufgrund seiner charakteristischen, speichernden Zellen zum reticuloendothelialen System der Haut rechneten. Auch in einer neueren umfassenden Publikation wird das Histiocytom vom Dermato-fibrom streng getrennt (NIEMI 1970). Andere Untersucher differenzieren nicht zwischen den beiden Tumoren, sondern halten sie für eng verwandt (RENTIERS u. MONTGOMERY 1949, BANDMANN 1957, dort auch entsprechende Literatur). Hinsichtlich der Genese bestehen jedoch unterschiedliche Auffassungen. Während BANDMANN (1957) sie für echte Geschwülste hält, sehen RENTIERS u. MONTGOMERY (1949) in ihnen eine posttraumatische, entzündliche Proliferation von Bindegewebszellen und bezeichneten sie als noduläre subepidermale Fibrose.

Auf die Klinik der Histiocytome kann hier nicht näher eingegangen werden. Histologisch sieht man im mittleren und tiefen Corium eine Ansammlung polygonaler oder sternförmiger Histiocyten. Ihre Kerne sind chromatindicht, ihr Protoplasma ist umfangreich. Teilweise sind Riesenzellen, meist vom Touton-Typ, nachweisbar. Eine wabige Struktur

des Plasmas der Histiocyten deutet auf eine Einlagerung von Lipiden hin, ausserdem können die Zellen Hämosiderin speichern. Neben den meist überwiegenden Histiocyten ist eine wechselnde Zahl von spindelförmigen Fibroblasten (NÜDL 1960) vorhanden. Nach dem mikroskopischen Bild teilt BORN (1956) die Tumoren in nicht speichernde, fett-speichernde, eisenspeichernde sowie fett- und eisenspeichernde Formen ein. Ein nicht speichernder Histiocyt ist von einem Fibrocyten oder einem Fibroblasten nur schwer zu unterscheiden. Bei den eigenen Untersuchungen wurden daher nur solche Tumoren als Histiocytome bezeichnet, deren Cytoplasma eine Hämosiderin- oder eine Lipidspeicherung erkennen läßt.

Argyrophile Fasern wurden in Histiocytomen nachgewiesen (BANDMANN 1957, FRENK 1961, NIEMI 1970). In den speichernden Histiocytomen fand sich ein besonders gut entwickeltes reticuläres Fasergerüst; in weniger zellreichen Histiocytomen herrschten schmale kollagene Fasern, die von wenigen argyrophilen Fasern begleitet waren, vor. Zellarme Dermatofibrome mit breiten kollagenen Fasern wiesen keine argyrophilen Fasern auf (FRENK 1961). Bei einer Gegenüberstellung von Befunden an 81 Dermatofibromen und 82 Histiocytomen kam NIEMI (1970) zu folgenden Ergebnissen: Bei der Mehrzahl der Histiocytome werden ganze Zellgruppen von reticulären Fasern umgeben, in wesentlich weniger Fällen war eine Zuordnung zu Einzelzellen oder zu kollagenen Faserbündeln erkennbar. Beim Dermatofibrom dagegen konnten die reticulären Fasern entweder Einzelzellen oder Kollagenfasern zugeordnet werden.

Über histochemische Lipidnachweise in Histiocyten wurde in der Literatur relativ selten berichtet. Nach früheren Untersuchungen sollen hauptsächlich Cholesterinester eingelagert werden (Literatur s. BRAUN-FALCO 1961). CRAMER

(1968) interpretiert seine mit 28 verschiedenen histochemischen Lipidnachweismethoden erzielten Ergebnisse sehr zurückhaltend. Der Anteil an Phospholipiden war im Vergleich zu den mittels der Sudan-Farbstoff-Methode nachweisbaren Lipiden gering; die Phospholipide waren ausserdem nur in solchen Bezirken festzustellen, in denen die Fettspeicherung noch nicht abgeschlossen war. Weiter wurde das Vorhandensein ungesättigter Fettsäuren angenommen. Der nachweisbare Cholesteringehalt war unterschiedlich ausgeprägt. In der uns zugänglichen Literatur wurde über chemische Analysen der Lipide von Histiocytomen nicht berichtet.

Histochemische Hydrolasenuntersuchungen an Histiocytomen liegen bisher von einigen Untersuchern vor. In einer kürzlich publizierten Untersuchung (NIEMI 1970) reagierten Histiocyten auf alkalische Phosphatase negativ, auf saure Phosphatase und auf Leucinaminopeptidase stark positiv, auf α -Naphthylacetat-Esterase positiv. Untersuchungen von KLAUS u. WINKELMANN (1966) sowie von WELLS (1957) erbrachten gleiche Resultate. Bei den genannten Untersuchungen reagierten Histiocyten deutlich stärker als Fibroblasten. Allerdings wurde für die α -Naphthylacetat-Esterase-Reaktion auch ein gleichermassen stark positiver Reaktionsausfall in Histiocyten und Fibroblasten beobachtet (STEIGLEDER u. SCHULTIS 1957 a).

Die eigenen Befunde wurden an Histiocytomen erhoben, die sowohl Hämosiderin als auch Lipide speichern. Im Fall 1 enthält das Histiocytom eine annähernd gleiche Zahl hämosiderinspeichernder und lipidspeichernder Zellen (sog. Sideroxanthom Grütz). Es finden sich grosse Bezirke mit fast ausschliesslicher Hämosiderinspeicherung und solche, die überwiegend Lipide speichern. In einigen Riesenzellen

wird sowohl Hämosiderin als auch Fett gespeichert. Im Fall 2 speichert der Tumor überwiegend Fett, im Fall 3 Hämosiderin. Alle 3 Fälle enthalten Zellen, die als Fibrocyten angesprochen werden. Fall 1 und 3 weisen grössere, eindeutig fibrocytäre Partien mit schmalen kollagenen Fasern auf. Mit der alkalischen Phosphatase-Reaktion läßt sich eine vermehrte Kapillarisierung der Histiocytoome histochemisch gut darstellen. In Histiocyten, Fibroblasten und Fibrocyten fällt die alkalische Phosphatase-Reaktion negativ aus. Dagegen ist saure Phosphatase in allen Zellen des Histiocytoms nachweisbar. Unterschiede bestehen jedoch darin, daß grosse Histiocyten in lipidspeichernden Partien schon nach kurzer Inkubationszeit stärker reagieren. Kleine Gruppen dicht aneinander gefügter Schaumzellen, die wie Riesenzellen imponieren, zeigen die gleiche Reaktion. Es ist allerdings nicht sicher, ob es sich bei diesen Zellen um echte Riesenzellen handelt. Nicht speichernde Histiocyten reagieren etwas schwächer. Hämosiderinspeichernde Histiocyten reagieren unterschiedlich stark (s. Tab. 2). Die überwiegenden kleinen Histiocyten zeigen den gleichen deutlich positiven Reaktionsausfall wie morphologisch gleichartige Zellen des Dermatofibroms. Es sei noch einmal betont, daß lediglich die fettspeichernden Zellen stärker reagieren.

♂-Naphthylacetat-Esterase ist in den Histiocytomzellen in annähernd gleicher Verteilung und Reaktionsstärke nachweisbar wie saure Phosphatase (S. Tab. 2). Lipidspeichernde Zellen reagieren zusammen mit hämosiderinspeichernden Histiocyten am stärksten. Die Reaktion fällt in Fibrocyten nur zum Teil schwach bis deutlich positiv aus.

Zu ganz anderen Resultaten kommt man beim Nachweis unspezifischer Esterasen mit Naphthol-AS- bzw. AS-D-acetat. Hier zeigen nämlich ausschliesslich die grossen Histiocyten fettspeichernder Partien und die erwähnten Schaumzellaggregate eine positive Reaktion. Die Schaumzellen reagieren deutlich positiv. Die Reaktion entspricht etwa der, wie sie regelmässig in Talgdrüsenläppchen beobachtet werden kann, etwas schwächer in den Fettzellen der normalen Subcutis. Isolierte Histiocyten dagegen weisen schon nach kurzer Inkubationszeit eine stark positive Reaktion auf. Xanthomzellen bei hyperlipidämischer Xanthomatose ergaben ebenfalls eine positive Reaktion (eigene Untersuchung, unveröffentlicht). Auch die Zellen des Xanthelasma palpebrarum zeigten eine positive Reaktion, mit zunehmendem Lipidgehalt der Schaumzellen nahm dabei die histochemisch faßbare Hydrolasenaktivität ab (BRAUN-FALCO 1970). Aufgrund der genannten Befunde kann man eine Beziehung der Naphthol-AS- bzw. Naphthol-AS-D-acetat-Esterase zum intracellulären Fettstoffwechsel annehmen. Dies trifft auch für die mit α -Naphthylacetat nachweisbaren Esterasen zu. Mit dem letztgenannten Substrat erzielten MOHR u. BENEKE (1969 a) an isolierten Fettzellen der Ratte stark positive Reaktionen. Zu ebenfalls positiven Reaktionen kam es mit diesem Substrat in zur Fettsynthese prädisponierten Zellen von neugeborenen Ratten. Eine Fetteinlagerung war zu diesem Zeitpunkt lichtmikroskopisch noch nicht zu erkennen (MOHR u. BENEKE 1969 b). Das Substrat α -Naphthylacetat kann auch von Lipasen hydrolysiert werden (GÖSSNER 1955, 1958). Nach den vorgelegten Befunden trifft dies sicher auch für Naphthol-AS- bzw. Naphthol-AS-D-acetat zu. Aus den eigenen Befunden kann man weiter schliessen, daß mit dem Substrat α -Naphthylacetat mehr Esterasen nachgewiesen werden können als mit Naphthol-AS- bzw. Naphthol-AS-D-

acetat. Möglicherweise erfaßt das letztere Substrat überwiegend Lipasen, d.h. das Substrat könnte eine grössere "Spezifität" für Lipasen besitzen. Es sei ausdrücklich vermerkt, daß sich diese Überlegungen naturgemäß nur auf histochemische Nachweisverfahren beziehen.

5. Dermatofibrom

Dieser Tumor wurde im vorhergehenden Abschnitt bei der Besprechung des Histiocytoms bereits erwähnt. Der von SCHREUS (1930) geprägte Begriff "Dermatofibroma lenticulare" hat sich in der dermatologischen Literatur allgemein durchgesetzt. Wesentliche Beschreibungen früherer Jahre stammen von ARNING u. LEWANDOWSKY (1911, "Nodulus cutaneus") sowie von UNNA (1894, "Fibroma simplex"). Wie beim Histiocytom, so bestehen auch beim Dermatofibrom unterschiedliche Auffassungen zur Geschwulstnatur dieses Tumors. Die schon angedeuteten Wechselbeziehungen zwischen Dermatofibrom und Histiocytom werden später noch erörtert.

Das histologische Bild zeigt Fibrocyten und Fibroblasten in wechselnder Zahl. In den mit breiten kollagenen Fasern ausgestatteten Dermatofibromen finden sich meist relativ wenig Kerne. Jüngere Dermatofibrome sollen kernreicher sein (BIBERSTEIN 1932). In einer neueren Untersuchung werden kollagene, unterschiedlich angeordnete Fasern beschrieben; konzentrisch-perivasal, fasciculär und wirbelartig. Die perivasal-konzentrischen Dermatofibrome erscheinen nach den beigefügten Abbildungen kernärmer. In dieser Gruppe fanden sich auch zahlreichere Tumoren mit längerer Bestandsdauer (NIEMI 1970). Der Unterschied war jedoch statistisch nicht zu sichern.

Bei der Beschreibung des Histiocytoms wurde bereits auf die Ausbildung argyrophiler Fasern in Dermatofibromen hingewiesen. Zwei Befunde sollen noch einmal genannt werden: Die reticulären Fasern liessen sich regelmässig Einzelzellen zuordnen oder sie folgten dem Verlauf der kollagenen Fasern (NIEMI 1970). In zellarmen Dermatofibromen mit breiten kollagenen Fasern konnten keine reticulären Fasern nachgewiesen werden (FRENK 1961).

Bei den histochemischen Untersuchungen zeigten die Fibroblasten des Dermatofibroms eine negative alkalische Phosphatase-Reaktion; die Reaktion auf saure Phosphatase fiel gelegentlich schwach positiv aus; fast stets negativ war die Reaktion auf α -Naphthylacetat-Esterase; Leucinaminopeptidase verhielt sich positiv (NIEMI 1970). Frühere Untersucher kamen teilweise zu anderen Ergebnissen. So liess sich alkalische Phosphatase in Fibrocyten des Dermatofibroms nachweisen (KOPF 1957). Die Reaktion auf saure Phosphatase war ebenfalls positiv (KLAUS u. WINKELMANN 1966). Weiterhin fiel die Reaktion auf α -Naphthylacetat-Esterase in Fibroblasten stark positiv aus (STEIGLEDER u. SCHULTIS 1957 a); bei dieser Untersuchung wurde allerdings nicht zwischen Histiocytomen und Dermatofibromen unterschieden. Der letztere Befund konnte später, wenn auch mit einer schwächer positiven Reaktion, bestätigt werden (KLAUS u. WINKELMANN 1966). Bei der Reaktion auf Leucinaminopeptidase gab es gleichartig positive Resultate (STEIGLEDER u.M. 1962, KLAUS u. WINKELMANN 1966).

Bei den eigenen histochemischen Untersuchungen liess sich eine alkalische Phosphatase-Aktivität in den faserbildenden Zellen nicht feststellen. Ob es in derartigen Dermatofibromen allerdings zum Zeitpunkt der Untersuchung zu

einer wesentlichen Neubildung von Fasern kommt, erscheint von vornherein fraglich. Die Reaktion auf saure Phosphatase fiel in den Fibrocyten und Fibroblasten im Unterschied zum normalen Hautgewebe schwach bis deutlich positiv aus. NIDMI (1970) erzielte ihre nur teilweise schwach positiven saure Phosphatase-Befunde mit einer anderen Nachweismethode. Morphologisch den Histiocyten entsprechende Zellen, in denen jedoch keine Speicherung nachweisbar war, reagierten stärker positiv auf saure Phosphatase als Fibrocyten; schon nach 60 min Inkubationszeit war ein deutlich positiver Befund zu erzielen, nach 3-stündiger Inkubation war der Unterschied gegenüber Fibroblasten wieder geringer. Nach kurzer Zeit stark positiv reagierende Zellen, die als Makrophagen bezeichnet werden könnten, waren nicht nachweisbar.

Die Reaktion auf α -Naphthylacetat-Esterase fiel bei den eigenen Untersuchungen in den typischen Fibrocyten der Fälle 1 und 2 schwach positiv, sehr selten deutlich positiv aus; in den übrigen 3 Fällen blieben die Fibrocyten negativ. Alle Dermatofibrome wiesen jedoch einen Anteil von Zellen auf, die deutlich positiv reagierten. Diese Zellen mit relativ kleinen ovalen chromatindichten Kernen liessen nicht immer einen eindeutigen Bezug zur Faserbildung erkennen. Sie wurden als Histiocyten angesprochen. Die Schwierigkeit, solche Zellen mit genügender Sicherheit morphologisch von Fibrocyten abzugrenzen, kann dazu veranlassen, hier von "fibrohistiocytyären" Partien zu sprechen. Solche Partien mit deutlicher Positivität nahmen in den Fällen 1 und 2 ca. 75 %, im Fall 3 ca. 5 %, in Fall 4 und 5 ca. 20 % der Dermatofibromfläche ein. Nach diesen Befunden existieren also einerseits Dermatofibrome mit einem grossen Anteil deutlich esterase-positiver Zellen (vergl. Abb.12), in denen gleichzeitig auch typische

fibrocytäre Partien mit schwach positiver Reaktion vorkommen; andererseits Dermatofibrome mit weit Überwiegenden typischen Fibrocyten, die negativ reagieren. Die als Histiocyten bezeichneten Zellen reagieren wie die lichtmikroskopisch nicht speichernden Histiocyten in den untersuchten Histiocytomen. Die Zahl esterase-positiver Zellen ist also nach den vorgelegten Befunden sehr unterschiedlich hoch. Ob es sich bei diesen Zellen um Histiocyten handelt, läßt sich durch eine positive Reaktion auf α -Naphthylacetat-Esterase letztlich nicht beweisen. Denn in gleicher Weise reagieren auch "aktivierte" Fibrocyten bei Akrodermatitis chronica atrophicans.

Unspezifische Esterasen liessen sich mit dem Substrat Naphthol-AS- bzw. Naphthol-AS-D-acetat in Fibrocyten und Histiocyten des Dermatofibroms nicht nachweisen. Eine schwach positive Reaktion zeigten lediglich Zellen, die als Mastzellen angesprochen wurden. Diese konnten mit der Naphthol-AS-D-chloracetat-Reaktion im Dermatofibrom deutlich vermehrt nachgewiesen werden; in der Umgebung des Dermatofibroms waren sie noch zahlreicher.

Die Aminopeptidase-Reaktion mit dem Substrat Leucylmethoxynaphthylamid fiel nach längerer Inkubation sowohl in den histiocytären als auch in den rein fibrocytären Bereichen positiv aus. Unterschiede, wie sie für die saure Phosphatase-Reaktion bereits besprochen wurden, zeigten sich bei kurzer Inkubationszeit auch hier: Histiocyten reagierten deutlich positiv, Fibrocyten dagegen schwach, seltener deutlich positiv. Im Dermatofibrom findet man also Zellen, die möglicherweise Histiocyten darstellen.

Im folgenden soll auf die wechselseitigen Beziehungen zwischen Dermatofibrom und Histiocytom sowie auf die Patho-

genese eingegangen werden. Histochemisch verhalten sich die beiden Tumoren teils gleichartig, teils unterschiedlich. So reagieren Zellen beider Tumoren deutlich positiv auf saure Phosphatase und auf α -Naphthylacetat-Esterase. Diese Zellen wurden als Histiocyten bezeichnet. Im Histiocytom stellen sie grundsätzlich gegenüber den Fibrocyten den grösseren Zellanteil dar. In zwei von 5 klinisch und mikroskopisch eindeutigen Dermatofibromen nahmen sie ebenfalls eine relativ grosse Fläche ein. Die enzymhistochemischen Befunde weisen also auf das Vorkommen von Zellen hin, die einerseits nicht typischen Fibrocyten und Fibroblasten entsprechen, andererseits nicht erkennbar speichern und die in Histiocytomen überwiegen, in Dermatofibromen in wechselnder Zahl anzutreffen sind. Man kann schliessen, daß zwischen beiden Tumoren wechselseitige Beziehungen bestehen. Das sollte u.E. nicht dazu führen, den Begriff des Dermatofibroms fallen zu lassen. Typische (speichernde) Histiocytome und typische Dermatofibrome sind klinisch, mikroskopisch und enzymhistochemisch gut voneinander abzugrenzen. Zwischenformen kommen vor.

Bei den Betrachtungen zur Pathogenese des Histiocytoms muß das Phänomen der Hämosiderin- und Lipidspeicherung besonders berücksichtigt werden (s. WORINGER u. KVIATKOWSKY 1952, BORN 1956). Das gespeicherte Eisen stammt aus Erythrocyten; und zwar sollen die Erythrocyten im Bereich lacunenartig erweiterter Venolen aus der Blutbahn austreten. Solche Lacunen werden in Histiocytomen öfter beobachtet (BANDMANN 1957, NIEMI 1970). In diesen Bereichen findet man auch oft isoliert hämosiderinspeichernde Histiocyten (vergl. Abb. 10). Tritt die Lacunenbildung zusammen mit massiven Extravasaten von Erythrocyten in den

Vordergrund, so resultiert daraus eine Variante des Histiocytoms, das sog. sklerosierende Angiom GROS-WOLBACH. Die extravasalen Erythrocyten gehen im Histiocytomgewebe zugrunde. Ihre Membranlipide werden phagocytiiert und können wahrscheinlich die besprochenen Esterase-Reaktionen induzieren. Dabei wird allerdings angenommen, daß die mit den Naphtholsubstraten nachweisbaren unspezifischen Esterasen nicht nur Neutralfette, sondern auch die Glycerin-Fettsäure-Esterbindung von Phospholipiden hydrolysieren können. Denn von den Gesamtlipiden der Erythrocyten entfallen etwa 60 % auf Phospholipide; der Cholesterinanteil beträgt etwa 25 %. 90 % der Lipide sind in der Zellmembran enthalten.

(Wissenschaftliche Tabellen Geigy 1969).

In lichtmikroskopischen Untersuchungen wurde auch bei einem kleineren Teil von Dermatofibromen abschnittsweise eine geringe Fett- und Eisenspeicherung beobachtet (BANDMANN 1957, FRENK 1961). Die maximal erweiterten kleinen Blutgefäße sind ebenfalls in typischen Dermatofibromen zu sehen, wenn sie auch in Histiocytomen häufiger sind (MIEMI 1970). Erythrocytenaustritte könnten auch im Dermatofibrom zu einer Ansammlung speichernder Histiocyten führen. Der Grad der Histiocytenproliferation wird dann von der primären Struktur des Dermatofibroms bestimmt (Ausbildung lacunenartiger Gefäße). Danach wäre die Histiocytomentwicklung ein sekundärer Vorgang. BANDMANN (1957) hat die wechselseitigen Beziehungen ähnlich dargestellt, allerdings soll sich der Fibrocyt in einen derartig speichernden Histiocyten umwandeln können.

Diese so entwickelten Vorstellungen zur Pathogenese des Histiocytoms sind mit den vorgelegten histochemischen Befunden, die mehr gemeinsames als trennendes aufweisen,

zu vereinbaren. Eine Verwandtschaft beider Tumoren lässt sich aus diesen Überlegungen ableiten.

Tab. 2: Enzymhistochemische Befunde am Histiocytom, Dermatofibrom und Dermatofibrosarcoma protuberans

Histiocytom	POX	aPh	sPh	-N-E	NAS-E/ NASD-E	NASDC-E	LA
Eisenspeich.Z.	o	o	+/++	++/+++	o	o	o
Lipidspeich.Z.	o	o	++/+++	++/+++	++/+++	o	+++
Histiocyten	o	o	++	++	o	o	+++
Fibrocyten	o	o	+/+++	z.T.+/++	o	o	+++
<u>Dermatofibrom</u>							
Fibrocyten	o	o	+/++	z.T.+	o	o	+++
Histiocyten	o	o	++	++	o	o	+++
<u>Dermatofibro- sarcoma protube- rans</u>							
Fibrocyten	o	o	+/++	o	o	o	+++

4. Dermatofibrosarcoma protuberans

Grundlegende Beschreibungen dieses Tumors wurden von DARIER u. FERRAND (1924) und HOFFMANN (1925) vorgelegt. Zunächst manifestiert sich der Tumor als eine plattenartige Verhärtung der Haut; in Wachstumsphasen werden dann zusätzlich Knoten ausgebildet. Histologisch dringt das Tumorgewebe vom Corium infiltrierend in die Subcutis vor. Das Zellbild ist relativ uniform; die Zellen entsprechen Fibroblasten, Mitosen sind hier und da nachweisbar. Die kollagenen Fasern, die von den Tumorzellen selbst ausgebildet werden, sind teils in unregelmässigen Bündeln angeordnet, teils kommt es zur Ausbildung charakteristischer, radiärer Strukturen: Von einem kernarmen Zentrum gehen radiär oder radspeichenartig Fibroblastenzüge aus. Dieses letztere Bild ist vorherrschend und in seiner Regelmässigkeit nur beim Dermatofibrosarcoma protuberans zu sehen (TAYLOR u. HELWIG 1962). Neben den kollagenen Fasern wurden auch argyrophile Fasern, die den Fibroblasten gut zugeordnet werden konnten, gesehen (TAYLOR u. HELWIG 1962). Die öfter beschriebenen myxomatösen Strukturen sollen gehäuft bei Tumorrezidiven auftreten (TAYLOR u. HELWIG 1962). Auch kommen nur mit einer Endothelschicht ausgekleidete, blutgefüllte Räume vor (DARIER u. FERRAND 1924, TAYLOR u. HELWIG 1962), wie sie für das Histiocytom erwähnt wurden. Sehr selten wurden auch fett- und hämosiderinspeichernde Histiocyten beobachtet (TAYLOR u. HELWIG 1962). Auf weitere mikroskopische und auch klinische Befunde soll hier nicht eingegangen werden (Übersichten s. GOTTRON u. NIKOLOWSKI 1960, TAYLOR u. HELWIG 1962, GROETSCHEL u. CRAMER 1968).

Zur Frage der Malignität soll noch kurz Stellung genommen werden. Der Tumor wächst örtlich infiltrierend und destrukturierend; er dringt bis zur Muskelfascie und seitlich weite

Strecken in das Corium oder die Subcutis vor. Da diese Ausdehnung makroskopisch kaum wahrnehmbar ist, wird der Tumor nicht immer weit genug im Gesunden exstirpiert; Rezidive sind die Folge. TAYLOR u. HELWIG (1962) konnten von ihren 115 histologisch untersuchten Fällen 98 nach unterschiedlich langer Laufzeit nachuntersuchen lassen: Eine Metastasierung wurde in keinem Fall festgestellt. Nach kritischer Prüfung der entsprechenden Schrifttumsfälle halten die gleichen Autoren eine Metastasierung in wenigen Fällen für erwiesen. Allerdings waren dabei immer mehrere Rezidive vorausgegangen.

Histochemische Untersuchungen am Dermatofibrosarcoma protuberans sind uns aus der uns zugänglichen Literatur nicht bekannt. In den eigenen Untersuchungen reagierte das Tumorgewebe mit Ausnahme der Reaktion auf saure Phosphatase und Aminopeptidase negativ. Untersucht wurden dabei kleine knollige Tumoranteile, die mikroskopisch Mitosen aufwiesen. Es lag danach ein proliferierendes, kollagene Fasern bildendes Tumorgewebe vor. In dieser Eigenschaft bleiben Fibroblasten bei der alkalischen Phosphatase-Reaktion, analog zum Dermatofibrom, negativ. Die α -Naphthylacetat-Esterase-Reaktion fällt, im Gegensatz zu den Befunden am Dermatofibrom und Histiocytom in den Fibroblasten des Dermatofibrosarcoma protuberans regelmäßig negativ aus. Die geschwulstartige, semimaligne Proliferation der Fibroblasten des Dermatofibrosarcoma protuberans unterscheidet sich in dieser Esterasen-Reaktion von den Fibrocyten des Dermatofibroms und des Histiocytoms. Bei der positiven saure Phosphatase- und Leucin-aminopeptidase-Reaktion handelt es sich um Enzyme, die auch in Fibrocyten der normalen Haut, wenn auch mit etwas schwächerer Reaktion, nachzuweisen sind.

V. Zusammenfassung

Die Arbeit befaßt sich mit fermenthistochemischen Untersuchungen von Hautbindegewebe. Auf der Basis der an normaler Haut zu erhebenden Befunde werden die Untersuchungsbefunde am Dermatofibrom, Histiocytom und Dermatofibrosarcoma protuberans einander gegenübergestellt.

Folgende enzymhistochemische Nachweisverfahren wurden angewandt: Peroxydase, alkalische Phosphatase, saure Phosphatase, α -Naphthylacetat-Esterase, Naphthol-AS- und -AS-D-acetat-Esterase, Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase, Leucinaminopeptidase.

Folgende Untersuchungsergebnisse konnten erzielt werden:

1.) Fibrocyten des normalen Coriums sind z.T. schwach saure phosphatase-positiv. Beim Dermatofibrom und beim Dermatofibrosarcoma protuberans ist diese Reaktion regelmässig und etwas stärker nachweisbar.

2.) Eine unspezifische Esterase-Reaktion läßt sich an normalen Fibrocyten nicht nachweisen. Das Histiocytom weist dagegen Zellen auf, die morphologisch als Fibrocyten anzusehen sind und die eine positive Esterasen-Reaktion auf α -Naphthylacetat als Substrat ergeben. Gleichartig reagiert ein Teil der Fibrocyten des Dermatofibroms. Fibrocyten des Dermatofibrosarcoma protuberans bleiben negativ.

3.) Histiocyten mit schwach positiver saure Phosphatase- und α -Naphthylacetat-Esterase-Reaktion sind im normalen Corium vereinzelt nachweisbar. In beiden Reaktionen reagieren alle Histiocyten des Histiocytoms und auch histiocytär imponierende Zellen des Dermatofibroms deutlich bis stark positiv. Ausschliesslich lipidspeichernde Histiocyten des

Histiocytoms zeigen eine deutlich bis stark positive Naphthol-AS- bzw. -AS-D-acetat-Esterase-Reaktion. Dieser Befund läßt es möglich erscheinen, daß speziell diese Esterase-Reaktion durch Lipide induziert wird. Sie könnte dann nicht als cytogenetisches Merkmal dienen und allein die Abstammung eines Makrophagen von einem Monocyten begründen.

4.) Mastzellen sind charakterisiert durch eine auch nach Paraffineinbettung des Gewebes stark positive Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase-Reaktion. Sie weisen ausserdem eine schwach positive saure Phosphatase- und α -Naphthylacetat-Esterase-Reaktion sowie eine schwach bis deutlich positive Naphthol-AS- bzw. -AS-D-acetat-Esterase auf. Mastzellen können im Gewebe die verschiedensten Zell- und Kernformen aufweisen. Eine nach längerer Inkubationszeit positive Naphthol-AS- bzw. -AS-D-acetat-Esterase-Reaktion an unterschiedlich geformten Zellen des cutanen Bindegewebes kann danach nicht begründen, daß es sich bei derartig positiven Zellen um Monocyten oder monocytogene Makrophagen handelt.

5.) Von den untersuchten geschwulstartigen Proliferationen kann das Dermatofibrosarcoma protuberans als enzymhistochemisch "unreif" betrachtet werden. Das Histiocytom weist dagegen zahlreiche Zellen mit enzymhistochemischer Phosphatase- und Esterasenaktivität auf. Das Dermatofibrom nimmt eine Zwischenstellung ein; die teilweise positive α -Naphthylacetat-Esterase-Reaktion stellt das Dermatofibrom jedoch in die Nähe des Histiocytoms.

Literatur

- 1.) ARDACHIS, K. u.
W. MONTAGNA: Histology and cytochemistry of human skin.
XXII. Sites of leucine aminopeptidase (LAP).
J.invest.Derm.37,145-147 (1961)
- 2.) ARNING, E. u.
F.LEWANDOWSKY: Noduli cutanei, eine bisher wenig beachtete Hautaffektion.
Arch.Derm.Syph. (Berlin) 110, 3-14 (1911)
- 3.) ASCHOFF, L.: Das reticulo-endotheliale System.
Erg.Inn.Med.Kinderheilk. 26, 1-118 (1924)
- 4.) BANDMANN, H.-J.: Ein Beitrag zur morphologischen Pathologie des Dermatofibroma lentiginosum bzw. des Histiocytoms.
Arch.klin.exp.Dermat. 204, 584-603 (1957)
- 5.) BERGER, H.,
HUNDEIKER, M. u.
A.W. ENGELHARDT: Über das Infiltrat im Lichen-ruber-Herd.
Arch.klin.exp.Derm. 235, 394-399 (1969)
- 6.) BIBERSTEIN, H.: Die Histologie der Fibrome und Keloide.
In: J.Jadassohn: Handb.d.Haut- u. Geschlechtskrankheiten, Bd.XII/2, Berlin: Springer 1932

- 7.) BORN, R.C.: Zur Klinik und Histologie der hämosiderinspeichernden Histiocyto-
me der Haut.
Arch.Derm.Syph.(Berlin) 203,
101-112 (1956)
- 8.) BRAUN-FALCO, O.: Histochemische Amino-peptidase-Dar-
stellung in normaler Haut, bei
Psoriasis, Dermatitis, Basaliom,
spinocellulärem Carcinom und
Molluscum sebaceum.
Derm.Wschr.134, 1341-1349 (1956)
- 9.) BRAUN-FALCO, O.: Die Histochemie der Haut. In:
Dermatologie und Venerologie, hrsg.
v.H.A.Gottron u.W.Schönfeld, Bd.I/1,
Stuttgart: Thieme 1961
- 10.) BRAUN-FALCO, O.: Zur Morphogenese des Xanthelasma
palpebrarum.
Arch.klin.exp.Derm.238,
292-307 (1970)
- 11.) BRAUN-FALCO, O. u.
K. SALFELD: Leucine amino-peptidase activity
in mast cells.
Nature (Lond.)183, 51-52 (1959)
- 12.) BRAUN-FALCO, O. u.
G. BURG (a): Zur Histochemie der Capillaren bei
Psoriasis vulgaris.
Arch.klin.exp.Derm.236,
173-189 (1970)

- 13.) BRAUN-FALCO, O. u.
G. BURG (b):
Histochemische und cytochemische
Untersuchungen bei der allergi-
schen DNCB-Kontaktdermatitis des
Meerschweinchens.
Arch.klin.exp.Derm. 239,
307-322 (1970)
- 14.) BREATHNACH, A.S.:
An atlas of the ultrastructure
of human skin. Development, Differa-
tion and post-natal features.
London: J.& A.Churchill 1971
- 15.) CRAMER, H.J.:
Zur Histologie und Histochemie des
xanthomatösen Histiocytoms.
Arch.klin.exp.Derm. 232,
138-147 (1968)
- 16.) DARIER, J. u.
M. FERRAND:
Dermatofibromes progressifs et
récidivants ou fibrosarcomes de
la peau.
Ann.Dermat.et Syph.5,545-562 (1924)
- 17.) DAVIS, B.J. u.
L. ORNSTEIN:
High resolution enzyme localisation
with a new diazo reagent "hexazo-
nium pararosaniline".
J.Histochem.Cytochem.7,297-298 (1959).
- 18.) FISCHER, R.:
Neue Aspekte der pathologischen
Anatomie der Leukosen.
Der Internist 9, 457-465 (1968)
- 19.) FRENK, E.:
Zur Histologie der Fibrome und
Histiocytome der Haut.
Hautarzt 12, 15-19 (1961)

- 20.) FRESSEN, O.: Das retotheliale System; seine physiologische Bedeutung, morphologische Bestimmung und Stellung in der Hämatologie.
In: Handb.d.gesamten Hämatologie, hrsg.v.L.Heilmeyer u. A.Hittmaier, Bd.I/1. München-Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg 1957.
- 21.) GIESEKING, R.: Mesenchymale Gewebe und ihre Reaktionsformen im elektronenoptischen Bild.
Veröffentl.morpholog.Path. Heft 72, Stuttgart, G.Fischer 1966.
- 22.) GÖSSNER, W.: Histoenzymatische Untersuchungen zur Tuberkulose.
Verh.dtsch.Ges.Path. 39, 152-155 (1955)
- 23.) GÖSSNER, W.: Histochemischer Nachweis hydrolytischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode. Untersuchungen zur Methodik und vergleichenden Histotopik der Esterasen und Phosphatasen bei Wirbeltieren.
Histochemie 7, 48-96 (1958)
- 24.) GOLDBERG, A.F. u. T. BARKA: Acid phosphatase activity in human blood cells.
Nature (Lond.) 195, 297 (1962)

- 25.) GOTTRON, H.A. u.
W. NIKOLOWSKI: Sarkom der Haut.
In: Dermatologie u. Venerologie,
hrsg.v. H.A.Gottron u. W.Schönfeld,
Bd. IV, Stuttgart: Thieme 1960
- 26.) GROETSCHER, H. u.
H.J. CRAMER: Multilokulär-symmetrisches Dermato-
fibrosarkoma protuberans.
Derm.Wschr.153, 574-582 (1967)
- 27.) HERZOG, G.: Über die Bedeutung der Gefäßwand-
zellen in der Pathologie.
Klin.Wschr.2, 684-689 u.
730-736 (1923)
- 28.) HOFFMANN, E.: Über das knollentreibende Fibrosar-
kom (Dermatofibrosarkoma protuberans)
Dermat.Zschr.43, 1-28 (1925)
- 29.) HUNDEIKER, M.: Zur Abstammung der Zellen des Sar-
koidosegranuloms.
Der Hautarzt 20, 164-167 (1969)
- 30.) HUNDEIKER, M.: Monozyten im Infiltrat des Psoria-
sisherdes.
Dermatologica 140, 115-123 (1970)
- 31.) ISHIKAWA, H. u.
G. KLINGMÜLLER: Capillardarstellungen im Papillar-
körper insbesondere bei Psoriasis
vulgaris durch die Leucin-amino-
peptidase-Reaktion.
Arch.klin.exp.Derm. 217,
340-354 (1963)

- 32.) KISZELY, G. u.
Z. POSALAKY:
Mikrotechnische und histochemische
Untersuchungsmethoden.
Budapest Akadémiai Kiadó 1964
- 33.) KLAUS, S.N. u.
R.K. WINKELMANN:
The enzyme histochemistry of nodular
subepidermal fibrosis.
Brit.J.Derm.78, 398-402 (1966)
- 34.) KNOTH, W.,
G. EHLERS u.
M. RUHBACH:
Vergleichende fermenthistochemische
Untersuchungen nach Anwendung vier
verschiedener Schnittherstellungsverfahren.
Arch.klin.exp.Derm. 226,
153-166 (1966)
- 35.) KOPF, A.W.:
The distribution of alkaline phosphatase in normal and pathologic human skin.
Arch.Derm.Syph (Chicago) 75,
1-30 (1957)
- 36.) LEDER, L.-D.:
Der Blutmonocyt. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967
- 37.) LENNERT, K. (b):
Pathologische Anatomie der "Blastocytosen", mit einigen Bemerkungen zur Cytochemie der Mastzellen.
Arch.klin.exp.Derm. 213,
606-624 (1961)

- 38.) LENNERT, K.,
L.D. LEDER u.
H. LÖFFLER:
Fermenthistochemische Untersuchungen-
am lymphoreticulären Gewebe.
In: Zyto- und Histochemie in der
Hämatologie, hrsg.v. H.Merker.
Berlin-Göttingen-Heidelberg:
Springer 1963
- 39.) LÖFFLER, H.:
Cytochemischer Nachweis von unspe-
zifischer Esterase in Ausstrichen.
Beiträge zur Technik und Ergebnisse
im Blutausstrich des Menschen.
Klin.Wschr.39, 1220-1229 (1961)
- 40.) MACHER, E.:
Das entzündliche Haut-Infiltrat.
In: J.Jadassohn: Handb.d.Haut- u.
Geschlechtskrkh., Erg.Werk Bd.I/2,
hrsg.v.O Gans u.G.K. Steigleder.
Berlin-Göttingen-Heidelberg+New
York: Springer 1964
- 41.) MARCHAND, F.:
Die örtlichen reaktiven Vorgänge
(Lehre von der Entzündung).
Handbuch der allg.Pathologie
Bd.IV/1. Leipzig: S. Hirzel 1924
- 42.) MERKER, H.:
Die Cytochemie der Blutzellen.
In: Handbuch d.inn.Med. Bd. II/1,
hrsg.v.
Berlin: Springer 1968
- 43.) MOHR, W. u.
G. BENEKE:(a):
Histochemische Untersuchungen am
Fettgewebe.
Histochemie 17, 248-255 (1969)

- 44.) MOHR, W. u.
G. BENEKE (b):
Histochemische Untersuchungen der
Entstehung von Fettzellen.
Virchows Arch.Abt.B Zellpath. 3,
13-23 (1969)
- 45.) MONTAGNA, W.:
The structure and function of the
skin. New York,-London, Academic
Press 1962
- 46.) NIEMI, K.M.:
The Benign Fibrohistiocytic Tumours
of the Skin.
Acta Dermato-Venereol. (Stockholm)
Vol.50, Suppl. 63 (1970)
- 47.) NÖDL, F.:
Gutartige Neubildungen der Haut.
In: Dermatologie u.Venerologie,
hrsg.v. H.A.Gotttron u.W.Schönfeld,
Bd.IV, Stuttgart: Thieme 1960
- 48.) RENTIERS, P.L. u.
H. MONTGOMERY:
Nodular subepidermal fibrosis.
Dermatofibroma versus histiocytoma.
Arch.Derm.Syph.(Chicago) 59,
568-583 (1949)
- 49.) ROMEIS, B.:
Mikroskopische Technik.
16.Aufl.,München-Wien: R. Olden-
bourg 1968
- 50.) SCHAUER, A.:
Die Mastzelle.
In: Veröffentl.morpholog.Pathologie,
Heft 68. Stuttgart: G.Fischer 1964

- 51.) SCHMIDT, W.: Die normale Histologie von Corium und Subcutis.
In: J.Jadassohn: Handbuch d.Haut- u.Geschlechtskrkh., Erg.Werk Bd.I/1, hrsg.v.O.Gans u. G.K. Steigleder. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968
- 52.) SCHREUS, H.Th.: Dermatofibroma lenticulare.
Arch.Derm.Syph (Berl.) 181, 456-461 (1930)
- 53.) SPIER, H.W. u. K. MARTIN: Histochemische Untersuchungen über die Phosphomonoesterasen der gesunden Haut mit Hinweis auf Befunde bei Hauterkrankungen.
Arch.klin.exp.Derm. 202, 120-152 (1956)
- 54.) STEIGLEDER, G.K. u. H. LÖFFLER: Zum histochemischen Nachweis unspezifischer Esterasen und Lipasen.
Arch.klin.exp.Derm. 203, 41-60 (1956)
- 55.) STEIGLEDER, G.K. u. K. SCHULTIS.(a): Die Bedeutung des Nachweises unspezifischer Esterasen in Bindegewebszellen der Haut.
Arch.klin.exp.Derm. 204, 448-456 (1957)
- 56.) STEIGLEDER, G.K. u. K. SCHULTIS (b): Zur Histochemie der Esterasen der Haut.
Arch.klin.exp.Derm. 205, 196-211 (1957)

- 57.) STEIGLEDER, G.K.,
R. KUDICKE u.
Y. KAMEI:
Die Lokalisation der Amino-peptidase-
aktivität in normaler Haut.
Arch.klin.exp.Derm. 215,
307-325 (1962)
- 58.) TAYLOR, H.B. u.
E.B. HELWIG:
Dermatofibrosarcoma protuberans:
A study of 115 cases.
Cancer 15, 717-725 (1962)
- 59.) UNNA, P.G.:
Die Histopathologie der Hautkrank-
heiten.
In: Orth, J.: Lehrb.d.spez.patholog.
Anatomie, 8.Lieferung, Erg.Band,
II.Teil. Berlin: A.Hirschwald 1894
- 60.) WELLS, G.C.:
Esterases in cutaneous Granulomata.
Brit.J.Dermat.69,415-427 (1957)
- 61.) WOHLRAB, W.:
Über die Histotopographie der Phos-
phomonoesterasen im Psoriasisherd
und dessen Umgebung.
II.Mitteilung: Die saure Phospho-
monoesterase.
Arch.klin.exp.Derm.220,
660-616 (1964)
- 62.) WORINGER, F.:
Histiocytome xanthélasmissé du mollet
Bull.Soc.franc.Derm.Syph. 38,
1401-1405 (1931)
- 63.) WORINGER, F. u.
St. KVIATKOWSKI:
L'histiocytome de la peau.
Arch.Derm.Syph. 11,998-1010 (1932)

Am 4. Oktober 1941 wurde ich als Sohn des Herrn Dr. med. Herbert Lammert und seiner Ehefrau, Beatrix Lammert, geb. von Waldkirch, in Bad Ems a. d. Lahn geboren. Ich besuchte die Grundschule in Diez, von 1952 bis 1959 das Gymnasium in Limburg, zuletzt die Schule Birklehof in Hinterzarten, wo ich im Februar 1962 die Reifeprüfung ablegte. Nach einjähriger Tätigkeit als kaufmännischer Lehrling bei der Firma Biesterfeld in Hamburg nahm ich im Sommersemester 1963 das Medizinstudium an der Universität Mainz auf. Hier bestand ich im April 1966 das Physikum und nach sechs weiteren Semestern, davon je eines in Hamburg und in Bern, das Medizinische Staatsexamen im Juli 1969. Als Medizinalassistent arbeitete ich an der Chirurgischen Klinik, Krankenhaus Stuttgart-Feuerbach, am Marienhospital Stuttgart und an der Hautklinik des Krankenhauses Stuttgart-Bad Cannstatt. Im November 1970 wurde ich approbiert. 1971 diente ich als wehrpflichtiger Arzt bei der Bundeswehr. Im Anschluss daran war ich ein halbes Jahr am Institut für Anaesthesiologie der Universität Tübingen tätig. Seit Juli 1972 arbeite ich an der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen.

